

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-310992
 (43)Date of publication of application : 23.10.2002

(51)Int.Cl.

G01N 27/447

G01N 37/00

(21)Application number : 2001-117902

(71)Applicant : HITACHI ELECTRONICS ENG CO LTD

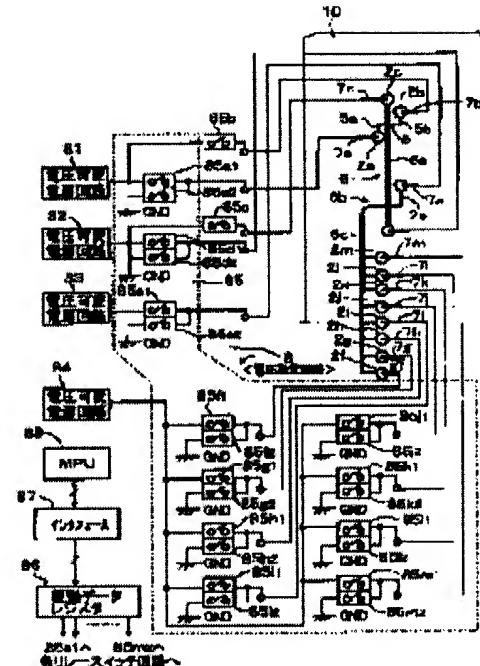
(22)Date of filing : 17.04.2001

(72)Inventor : MACHIDA HIROAKI
 SAKURAI TOSHIYUKI
 MIYAZAKI YUSUKE
 HAGIWARA HISASHI
 YOSHIDA TOSHIO
 KO SUIKU
 SEKI MINORU
 FUJII TERUO
 ENDO ISAO

(54) MICROCHIP AND MICROCHIP ELECTROPHORETIC APPARATUS

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a microchip electrohoretic apparatus capable of efficiently recovering a specific part of a sample in one microchip.
SOLUTION: The microchip is constituted so as to fractionate a desired part from a sample by the electrophoresis of the sample to recover the same in a pod and has a first migration groove (introducing groove) for allowing the introduced sample to migrate, the second migration groove (fractionation groove) crossing the first migration groove and the third migration groove (dispensation groove) crossing the second migration groove at a position different from the crossing position of the second migration groove. A plurality of pods for recovering the desired part of the sample are joined to the third migration groove.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2002-310992

(P2002-310992A)

(43)公開日 平成14年10月23日(2002.10.23)

(51)Int.Cl.⁷
G 0 1 N 27/447
37/00

識別記号
1 0 1

F I
G 0 1 N 37/00
27/26

テマコード*(参考)
1 0 1
3 3 1 E
3 3 1 C

審査請求 未請求 請求項の数4 O.L (全 6 頁)

(21)出願番号 特願2001-117902(P2001-117902)
(22)出願日 平成13年4月17日(2001.4.17)

(71)出願人 000233480
日立電子エンジニアリング株式会社
東京都渋谷区東3丁目16番3号
(72)発明者 町田 浩昭
東京都渋谷区東3丁目16番3号 日立電子
エンジニアリング株式会社内
(72)発明者 桜井 利之
東京都渋谷区東3丁目16番3号 日立電子
エンジニアリング株式会社内
(74)代理人 100079555
弁理士 梶山 信是 (外1名)

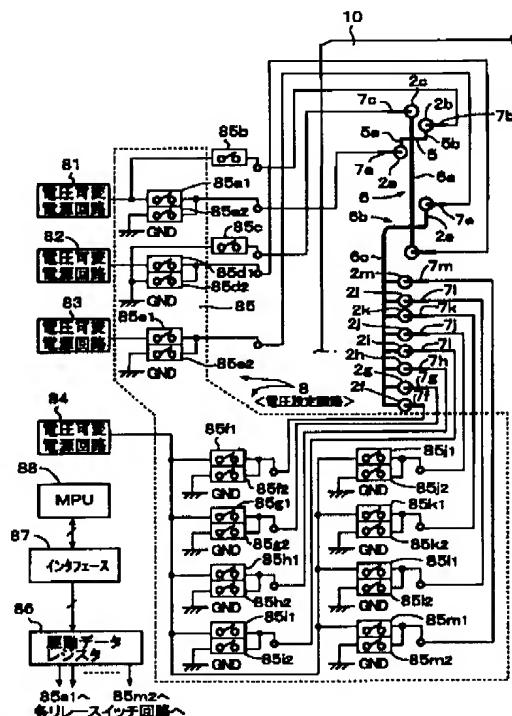
最終頁に続く

(54)【発明の名称】マイクロチップおよびマイクロチップ電気泳動装置

(57)【要約】

【課題】1枚のマイクロチップにおいて、試料の特定の部分の回収が効率的に行えるマイクロチップ電気泳動装置を提供することにある。

【解決手段】この発明は、試料を電気泳動させて試料から所望の部分を分画してポッドに回収するマイクロチップにおいて、導入された試料を泳動させる第1の泳動溝(導入溝)とこれに交差する第2の泳動溝(分画溝)とこの第2の泳動溝に前記の交差とは異なる位置で交差する第3の泳動溝(分取溝)とを有し、第3の泳動溝に試料の所望の部分を回収するためのポッドが複数個それぞれに結合されているものである。



1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 試料を電気泳動させて前記試料から所望の部分を分画してポッドに回収するマイクロチップにおいて、

導入された試料を泳動させる第1の泳動溝とこれに交差する第2の泳動溝とこの第2の泳動溝に前記交差とは異なる位置で交差する第3の泳動溝とを有し、前記第3の泳動溝に前記試料の所望の部分を回収するためのポッドが複数個それぞれに結合されていることを特徴とするマイクロチップ。

【請求項2】 前記試料はDNAであり、前記第1の泳動溝は導入溝であり、前記第2の泳動溝は分画溝であり、前記第3の泳動溝は分取溝であり、前記複数のポッドは、前記分取溝の前記分画溝との交差点より遠い端から前記分取溝に沿って一列に配列されている請求項1記載のマイクロチップ。

【請求項3】 試料を電気泳動させて前記試料から所望の部分を分画してマイクロチップの所定のポッドに回収するマイクロチップ電気泳動装置において、

導入された試料を泳動させる第1の泳動溝とこれに交差する第2の泳動溝とこの第2の泳動溝に前記交差とは異なる位置で交差する第3の泳動溝とを有し、前記第3の泳動溝に前記試料の所望の部分を回収するためのポッドが複数個それぞれに結合されているマイクロチップと、前記複数のポッドの1つに選択的に所定の電圧をかける電圧印加手段とを備え、前記所定の電圧をかけるポッドが順次選択されて、前記複数のポッドのそれぞれに前記所望の部分が回収されることを特徴とするマイクロチップ電気泳動装置。

【請求項4】 前記試料はDNAであり、前記複数のポッドは、前記分取溝と前記分画溝との交差点より遠い端から前記分取溝に沿って一列に配列されていて、遠い端側からポッドが順次選択され、前記交差点より高い所定の電圧が印加される請求項3記載のマイクロチップ電気泳動装置。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】 この発明は、マイクロチップおよびマイクロチップ電気泳動装置に関し、詳しくは、1枚のマイクロチップにおいて、マイクロチップ泳動路上で泳動された試料（サンプル）を異なる条件で複数のポッドのそれぞれに容易に分取でき、試料の特定の部分の回収が効率的に行えるマイクロチップおよびマイクロチップ電気泳動装置に関する。

【0002】

【従来の技術】 従来のマイクロチップは、特開平10-246721号等に記載されているように、数十 μm ～百 μm 程度の十字の泳動路溝が透明なプラスチック基板の内部に基板の面に沿って設けられ、溝の各端部には上部が開口したポッド（2mm ϕ 程度の穴）がリザーバと

2

して設けられている。このポッドの1つあるいはいくつかから電気泳動液（GEL）が溝に注入されて充填された後に、ポッドの1つに試料が充填される。そして、そのポッドに対して同じ溝の対向する側のポッドに+Vの高電圧が印加されて試料を導入溝に沿って電気泳動させる（導入処理、図4（a）参照）。所定の時間経過後に泳動の途中で導入溝の十字路のクロスポイントに目的のものが泳動してきたタイミングを見計らって、ポッドの電圧印加を切り換えて泳動溝を分画溝側に切り換える。さらに、目標のポッドに向けて試料を所定の一定時間泳動させる（分画処理、図4（b）参照）。これにより、例えば、DNA解析などでは泳動路で分画され分離された試料（例えば目的のDNAバンド部分）を光学的なレーザ光等を用いた検出装置で検出し、その鎖長解析などが行われる。あるいは、一定時間経過後に目的のポッドに到達した分画された試料、例えば、分画された目的のDNAバンド部分を二次元検出器で検出して記録し、それを解析して解析結果に応じて目的とするDNAを切り出して回収する。

【0003】 図4は、その電圧印加と導入処理、分画処理の説明図であって、1はマイクロチップ、2a, 2b, 2c, 2dは各ポッドであり、3は、ポッド2a、2bが両端に結合された、図面の左右方向に走る導入泳動溝、4は、ポッド2c、2dが両端に結合された、図面の上下方向に走る分画泳動溝である。これら溝は、十字にクロスしている（図4（a），（b）参照）。例えば、図（a）の十字の左側ポッド2aに試料が導入される。各ポッドには、図（a）の導入処理では、+150V、図（b）の分画処理では、+130Vあるいは+750Vの高電圧が印加されあるいはグランドGND（接地）電位に保持される。矢印は、DNAの泳動方向を示していて、DNAは、通常一イオンに帶電しているので、+電位に引き寄せられて高い電圧が印加されたポッドに向かって泳動していく。なお、ポッド2a, 2bに与えられる+130Vの電圧は、目標ポッド2bが+750Vのときのクロスポイントの電圧が102.3V (=750×6/44、ただし、ポッド2cからクロス点までが6mm、ポッド2cからポッド2dまでの距離が6mmとする。) であるとすれば、図（b）の分画処理では、これより大きな電圧+130Vを導入泳動溝3の両端のポッド2a, 2bに印加する。このことで、導入泳動溝3から不所望な試料が分画泳動溝4へ流入するのを防止する。これら各ポッドの電圧の印加は、それぞれのポッドに高電圧を印加する高圧電圧発生装置（電源）からリレー等のスイッチ、そしてポッドに挿入された白金電極を介してポッドに加えられる。印加電圧は、リレー等のスイッチのON/OFFにより切り換えられ、各ポッドの電圧印加の切り換え制御は、制御装置（MPU）等からインターフェースを介してリレーに切換制御信号が加えられることで行われる。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】このようなマイクロチップで回収されるDNAは、二次元検出器の検出データに基づいて人手によって、電気泳動液の中から目的とするDNAバンド部分を切り出し、切り出したDNAバンド部分が所定の溶液(ET溶液)に浸漬される。これによりDNAを溶出させて回収する。このような作業は、手間がかかり、自動化し難い欠点がある。この発明の目的は、このような従来技術を解決するものであって、1枚のマイクロチップにおいて、マイクロチップ泳動路上で泳動された試料を異なる条件で複数のポッドのそれぞれに容易に分取でき、試料の特定の部分の回収が効率的に行えるマイクロチップを提供することにある。この発明の他の目的は、1枚のマイクロチップにおいて、試料の特定の部分の回収が効率的に行えるマイクロチップ電気泳動装置を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】このような目的を達成するためのこの発明のマイクロチップの特徴は、試料を電気泳動させて試料から所望の部分を分画してポッドに回収するマイクロチップにおいて、導入された試料を泳動させる第1の泳動溝とこれに交差する第2の泳動溝との第2の泳動溝に前記の交差とは異なる位置で交差する第3の泳動溝とを有し、第3の泳動溝に試料の所望の部分を回収するためのポッドが複数個それぞれに結合されているものである。さらに、この発明のマイクロチップ電気泳動装置の特徴は、前記のマイクロチップと複数のポッドの1つに選択的に所定の電圧をかける電圧印加手段とを備えていて、所定の電圧をかけるポッドが順次選択されて、複数のポッドのそれぞれに所望の部分が回収されるものである。

【0006】

【発明の実施の形態】このように、この発明では、第3の溝(分取溝)に所望の部分の回収ポッドを複数個結合して、第3の溝(分取溝)を第2の溝(分画溝)に接続することにより、1枚のマイクロチップにおいて試料から分画された所望の部分を複数のポッドのそれぞれに回収することができる。その結果、1枚のマイクロチップにおいて、マイクロチップ泳動路上で泳動された試料を異なる条件で複数のポッドのそれぞれに試料から所望の部分を容易に分取することができ、試料の特定の部分の回収が効率的に行えるマイクロチップとマイクロチップ電気泳動装置を容易に実現することができる。

【0007】

【実施例】図1は、この発明を適用したマイクロチップとマイクロチップ電気泳動装置のポッド電圧制御部分の説明図、図2は、その分取処理までの説明図である。図1において、10は、マイクロチップであって、5は、図2の導入泳動溝3に対応する導入泳動溝であり、6は、図2の分画泳動溝4に対応する分画泳動溝である。

導入泳動溝5は、図面の左右方向に設けられ、分画泳動溝6に十字にクロスする溝であって、その両端のポッド2a, 2bは、この溝に対して図面の上下方向に設けられ、直角に曲がった溝5a, 5bにより導入泳動溝5の本体と結合されている。分画泳動溝6とのクロス点は、導入泳動溝5の中央位置にあって、ポッド2a, 2bからクロス点までの距離は実質的に等しく、例えば、数ミリ程度である。なお、このとき、ポッド2aからポッド2bまでの距離は6mm程度である。

【0008】一方、分画泳動溝6は、導入泳動溝5の本体と中央部でクロスする図面の上下方向の分画溝6aと、この分画溝6aの途中で十字にクロスする分取溝6bとからなり、分画溝6aには両端にポッド2c, 2dが結合され、その溝の長さは、50mm程度となっている。また、分取溝6bは、導入泳動溝5の本体に平行に設けられた右側端部が図面の上側に折れ曲がっていて、ポッド2eに結合され、分取溝6bの左側では、下側に直角に折れ曲がって伸びた溝6cを有している。この溝6cに沿って上下方向に一列に配列された多数のポッド2f～2mが並列に溝6cに連通接続されている。溝6cの長さも50mm程度である。各ポッド2a～2mには電極7a～7mが挿入されていて、各電極7a～7mは、電圧設定回路8によって、所定の電圧、グランドGNDあるいはオープン状態(高抵抗状態)に選択的に設定される。

【0009】電圧設定回路8は、導入泳動溝5の両端のポッド2a, 2bに対して電圧を印加する電圧可変電源81と、分画溝6aの両端のポッド2c, 2dに対して電圧を印加する電圧可変電源82、分取溝6bのポッド2eに対して電圧を印加する電圧可変電源83、そして分取溝6bのポッド2f～2mに対して電圧を印加する電圧可変電源84と多数のリースイッチ回路を有する切換スイッチ回路群85とからなる。切換スイッチ回路群85は、電圧可変電源81と電極7aとの間に挿入されたリースイッチ回路85a1と、電極7aとグランドGNDとの間に挿入されたリースイッチ回路85a2、電圧可変電源81と電極7bとの間に挿入されたリースイッチ回路85b、そして電極7cとグランドGNDとの間に挿入されたリースイッチ回路85cとを有している。

【0010】さらに、電圧可変電源84と電極7f～7mとの間にそれぞれ挿入されたリースイッチ回路85f1～85m1、電極7f～7mとグランドGNDとの間にそれぞれ挿入されたリースイッチ回路85f2～85m2と

がそれぞれに設けられている。なお、ここでは、切換スイッチ回路群85の各リースイッチ回路の数字符号に添えられた英文字は、それぞれの電極の英文字の添え字に対応し、さらにポッドの英文字の添え字とも対応している。また、英文字の添え字の後の「1」は、電極に+電位を印加するリースイッチ回路に対するものであり、英文字の添え字の後の「2」は、電極をGND電位に設定するリースイッチ回路に対するものである。これらリースイッチ回路85a1, 85a2, 85b1, 85b2, 85c, 85d1, 85d2, 85f1, f2~85m1, 85m2のそれぞれのON/OFFは、インタフェース87を介して送出されたMPU88からの制御信号を駆動データレジスタ86に記憶することにより制御される。ここで、目標となる各ポッド2f~2mに加えられる電圧は、+500V程度の電圧であるが、ここでは、分画溝6aと分取溝6bとのクロス点から遠い側のポッドから順次分取ポッドが使用される。以下、試料の導入からそのような分取までの処理を図2(a)~(b)により詳細に説明する。

【0011】まず、導入泳動溝5と分画泳動溝6と各ポッドに泳動液を充填後に、導入処理として、図2(a)に示すように、ポッド2aに試料(DNA)を注入し、リースイッチ回路85a2をONにしてポッド2aをGND電位にし、リースイッチ回路85b1をONにしてポッド2bに電圧可変電源82から、例えば、電圧150Vを印加する。このとき、他のポッド2c~2mは、対応するリースイッチ回路のうちGNDに接続する側(添え字英文字に「2」を付けたリースイッチ回路)がONとなって、GND電位にされる。これにより所定時間DNAを泳動させる。そして、所望のDNAバンド部分が導入泳動溝5と分画溝6aのクロス点に到達した時点で、次に分画処理をする。分画処理は、図2(b)に示すように、ポッド2a、2b、2d、2e、2mに電極に接続されたそれぞれ対応する電圧印加側のリースイッチ回路をONにして、ポッド2a, 2bには、例えば、140V程度の電圧を加え、ポッド2eとポッド2mに、例えば、500V程度の電圧を印加する。なお、このとき、ポッド2cは、GND電位のままであり、ポッド5dは、750V程度であって、このとき、前記のポッド2e, 2mの電圧500Vが分画溝6aと分取溝6bとのクロス点の電圧に対応するものである。なお、ポッド2f~2Lの電極が接続されたリースイッチ回路は、このときONからOFFにされてオープン(高抵抗状態)にされる。

【0012】これにより、所望のDNAバンド部分が矢印で示すように、分画溝6aと分取溝6bとのクロス点に向かって泳動し、目的のDNAバンド部分がこのクロス点あるいはこの付近にくる。この時点で、次の分取処理に入る。分取処理は、図2(c)に示すように、ポッド2cの電極に接続されたリースイッチ回路85cをO

NからOFFにして、オープン(高抵抗状態)にする。また、ポッド2eのリースイッチ回路85e2をONにしてGND電位に設定する。さらに、最初の分取ポッドであるポッド2fの電極に接続された電圧印加側のリースイッチ回路85f1をONにして、例えば、400V程度の電圧を印加する。また、ポッド2a, 2bも400V程度の電圧を印加し、ポッド2dには、70V程度の電圧を印加する。なお、400Vの電圧は、分画溝6aと分取溝6bとのクロス点の電圧よりも大きな値である。このとき、他の分取ポッド2g~2mは、オープンに設定する。これにより、所望のDNAバンド部分は、分取溝6bに沿って矢印の方向に移動し、不要な部分は、分画溝6aに沿って戻り、ポッド2a, 2bに回収される。その結果、目的のポッド2fに所望のDNAバンド部分が取り込まれる。

【0013】ここで、分取されなかつた残りのDNAは、ポッド2a, 2bから分画溝6aのクロス点までの距離が実質的に等しいので、それぞれのポッド2a, 2bに戻る。そこで、再び、図2(a)に示す導入処理をしてポッド2aから泳動するDNAから別の所望のDNAバンド部分を今度は、ポッド2gに取込む。この分取処理においては、電圧印加側のリースイッチ回路85g1をONにしてポッド2gに400Vの電圧が印加され、他の分取ポッド2f, 2h~2mがオープンに設定される。なお、ポッド2bにリザーブされている試料を使用して試料を分画する場合には、導入処理の電圧は、ポッド2b側がGNDに設定され、ポッド2a側に+電圧が加えられるが、これについてのリースイッチは記載していない。このとき、分取済みのポッド2fの電位は、ポッド2gの電位からの距離に応じてほぼ等しいがそれより少し低い値の電位に泳動液のイオンを介して帯電するので、ポッド2fに分取済みのDNAバンド部分がポッド2gに流入することはない。また、ポッド2gがポッド2fの手前にあるので、ポッド2gに分取するDNAバンド部分がポッド2fに流入することもない。

【0014】そこで、以下、同様にして分取ポッドを下から順次回収ポッドが選択され、最後には、リースイッチ回路85m1がONとなり、電圧可変電源84から+500Vの電圧がポッド2mに印加され、さらにリースイッチ回路85e2がONとなり、ポッド2eがグランドGNDにされて、目的のDNAバンド部分が分画されてポッド2mに採取される。なお、このとき、他の目標ポッド2f~2mのリースイッチ回路85f1, f2~2L1, 2L2とリースイッチ回路85m2は、OFFとする。もちろん、使用される回収ポッドは、全部でなくてもよい。このように分取ポッドを点線矢印で示すように、下側から順次回収ポッドが選択していくことにより、分取バンドの混合を防止でき、それぞれの分取ポッドに所望のDNAバンドを効率よく、取り込むことができる。な

お、前記の導入処理、分画処理、分取処理の各ポッドへの印加電圧は、一例であって、サンプルが移動する状態に応じてそれぞれの電圧を調整する。そのために、電圧可変電源81～84が用いられる。

【0015】図3は、分取のポッド2f～2mを他のポッドよりも大きくした例である。このとき、ポッド2f～2mを3mmφとし、導入ポッド2a, 2bを1.5mmφとし、分画溝両端のポッド2c, 2dを2mmφとしたものである。このように分取のポッドの径を大きくすることで、分取作用が容易になる。

【0016】以上説明してきたが、実施例では、導入泳動溝5と分画溝6a、分画溝6aと分取溝6bとは直角に交差しているが、この交差角は直角に限定されるものではない。さらに、分画溝6aに交差する分取溝は1個に限定されるものでもない。また、実施例では、溝で連通する1個の泳動路を示しているが、多数並列に同じ形状の連通溝を持つ泳動路を多数設けてもよいことはもちろんである。

【0017】

【発明の効果】以上の説明のとおり、この発明にあっては、第3の溝（分取溝）に所望の部分の回収ポッドを複数個結合して、第3の溝（分取溝）を第2の溝（分画溝）に接続することにより、1枚のマイクロチップにおいて試料から分画された所望の部分を複数のポッドのそ

れぞれに回収することができる。その結果、1枚のマイクロチップにおいて、マイクロチップ泳動路上で泳動された試料を異なる条件で複数のポッドのそれぞれに試料から所望の部分を容易に分取することができ、試料の特定の部分の回収が効率的に行えるマイクロチップとマイクロチップ電気泳動装置を容易に実現することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、この発明を適用したマイクロチップとマイクロチップ電気泳動装置のポッド電圧制御部分の説明図である。

【図2】図2は、その分取処理までの説明図である。

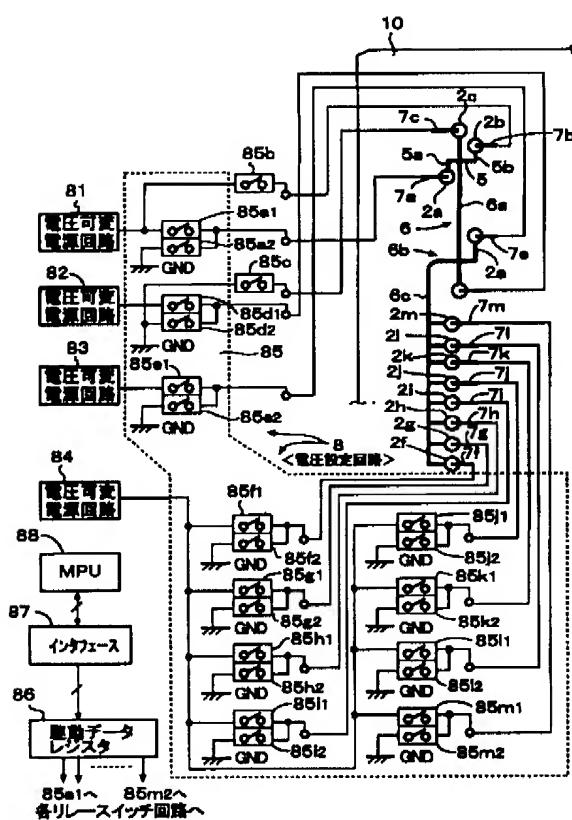
【図3】図3は、他の構成のマイクロチップの説明図である。

【図4】図4は、従来のマイクロチップにおける導入処理と分画処理の説明図である。

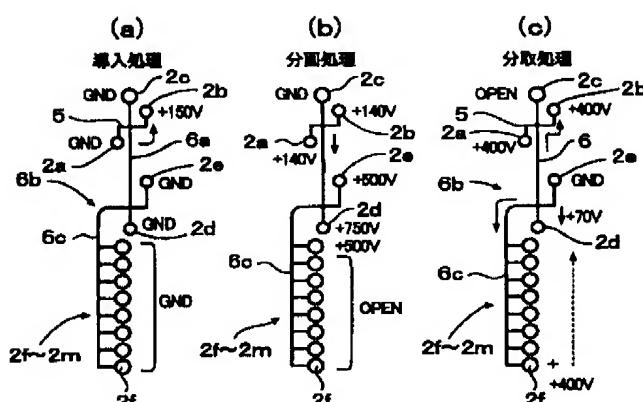
【符号の説明】

1…マイクロチップ、2a～2m…ポッド、3…導入泳動溝、4…分画泳動溝、5…導入泳動溝、6…分画泳動溝、6a…分画溝、6b…分取溝、7a～7m…電極、81～84…電圧可変電源、85a～85m…リースイッチ回路、86…駆動データレジスタ、87…インターフェース、88…MPU。

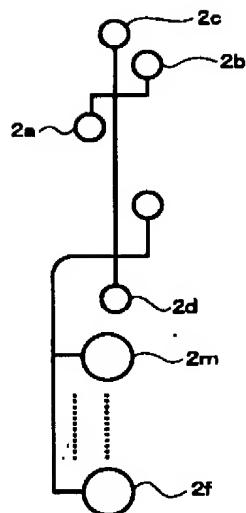
【図1】



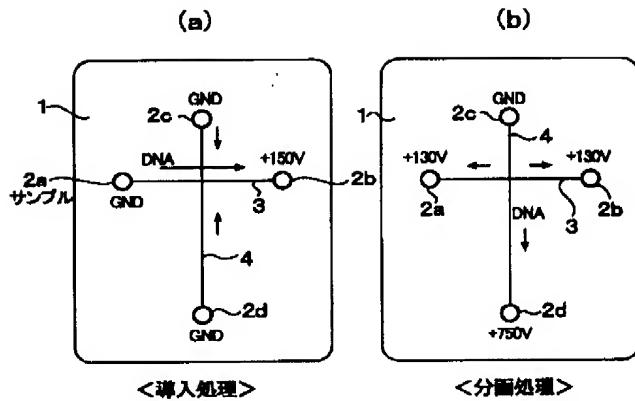
【図2】



【図3】



【図4】



フロントページの続き

(72) 発明者 宮崎 祐輔
東京都渋谷区東3丁目16番3号 日立電子
エンジニアリング株式会社内

(72) 発明者 萩原 久
東京都渋谷区東3丁目16番3号 日立電子
エンジニアリング株式会社内

(72) 発明者 吉田 敏雄
東京都渋谷区東3丁目16番3号 日立電子
エンジニアリング株式会社内

(72) 発明者 洪 錠▲いく▼
東京都港区白金台4丁目6番41号

(72) 発明者 関 実
東京都世田谷区北沢2丁目37番19号

(72) 発明者 藤井 輝夫
東京都目黒区上目黒5丁目17番1号

(72) 発明者 遠藤 熱
東京都国分寺市本多5丁目7番6号